

MENU

SEARCH

INDEX

DETAIL

JAPANESE

NEXT

1 / 3

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 11-246434

(43)Date of publication of application : 14.09.1999

(51)Int.Cl.

A61K 38/22

A61K 38/22

A61K 38/22

(21)Application number : 10-062231

(71)Applicant : SUMITOMO PHARMACEUT CO
LTD

(22)Date of filing : 25.02.1998

(72)Inventor : MORISHITA RYUICHI
OGIWARA TOSHIO
NAKAMURA TOSHIIICHI

(54) AGENT FOR INDUCING DECREASE OF BAX AND/OR INCREASE OF BCL-2

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain the subject medicine useful for diseases related to the increase of bax or the decrease of bc1-2 by including a hepatocyte growth factor(HGF) as an active ingredient.

SOLUTION: This agent for inducing the increase of bax and/or the increase of bc1-2 contains HGF as an active ingredient, and is useful for diseases related to the increase of the bax and/or the increase of the bc1-2, such as endothelial failures (diabetic endothelial failure) caused by hyperglycemia and ischemia. The medicine is prepared in various preparation forms (solutions, solid preparations, capsules, etc.). For example, an injection is prepared by dissolving the HGF in a solvent such as sterilized water or a buffer solution, filtering the solution through a filter to sterilize the solution, and subsequently charging the sterilized solution into aseptic containers. The content of the HGF in the injection is usually preferably about 0.0002-0.2 W/V.%. The medicine is usually preferably administered at a dose of 0.05-500 mg as the HGF once or several times a day.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of
rejection][Kind of final disposal of application other
than the examiner's decision of rejection or
application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's
decision of rejection][Date of requesting appeal against examiner's
decision of rejection]

[Date of extinction of right]



PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: **11246434 A**(43) Date of publication of application: **14 . 09 . 99**

(51) Int. Cl

A61K 38/22**A61K 38/22****A61K 38/22**(21) Application number: **10062231**(22) Date of filing: **25 . 02 . 98**(71) Applicant: **SUMITOMO PHARMACEUT CO LTD**(72) Inventor: **MORISHITA RYUICHI
OGIWARA TOSHIO
NAKAMURA TOSHIICHI**(54) **AGENT FOR INDUCING DECREASE OF BAX
AND/OR INCREASE OF BCL-2**

(57) Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain the subject medicine useful for diseases related to the increase of bax or the decrease of bc1-2 by including a hepatocyte growth factor(HGF) as an active ingredient.

SOLUTION: This agent for inducing the increase of bax and/or the increase of bc1-2 contains HGF as an active ingredient, and is useful for diseases related to the increase of the bax and/or the increase of the bc1-2, such as endothelial failures (diabetic endothelial

failure) caused by hyperglycemia and ischemia. The medicine is prepared in various preparation forms (solutions, solid preparations, capsules, etc.). For example, an injection is prepared by dissolving the HGF in a solvent such as sterilized water or a buffer solution, filtering the solution through a filter to sterilize the solution, and subsequently charging the sterilized solution into aseptic containers. The content of the HGF in the injection is usually preferably about 0.0002-0.2 W/V.%. The medicine is usually preferably administered at a dose of 0.05-500 mg as the HGF once or several times a day.

COPYRIGHT: (C)1999,JPO

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平11-246434

(43) 公開日 平成11年(1999) 9月14日

(51) Int.Cl.⁸

A 6 1 K 38/22

識別記号

A E D

A D S

A G Z

F I

A 6 1 K 37/24

A E D

A D S

A G Z

審査請求 未請求 請求項の数3 F D (全 6 頁)

(21) 出願番号

特願平10-62231

(22) 出願日

平成10年(1998) 2月25日

特許法第30条第1項適用申請有り 平成10年2月28日
社団法人日本循環器学会発行の「第62巻増刊 第62回日
本循環器学会学術集会特集」に発表

(71) 出願人 000183370

住友製薬株式会社

大阪府大阪市中央区道修町2丁目2番8号

(72) 発明者 森下 竜一

大阪府大阪市淀川区宮原2-11-22-502

(72) 発明者 萩原 俊男

大阪府箕面市桜ヶ丘2-7-29

(72) 発明者 中村 敏一

大阪府高槻市高見台4-1

(74) 代理人 弁理士 中村 敏夫

(54) 【発明の名称】 b a x の低下及び／又はb c l - 2 の増加誘導剤

(57) 【要約】

【解決手段】 肝実質細胞増殖因子 (H G F) を有効成分として含有する、b a x の低下及び／又はb c l - 2 の増加誘導剤。

【効果】 b a x の増加及び／又はb c l - 2 の低下が関与する種々の疾患に対する治療薬となる。具体的には、例えば障害を受けた血管内皮細胞のアポトーシスの進行を抑制することができる。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 肝実質細胞増殖因子 (HGF) を有効成分として含有する、bax の低下及び/又は bcl-2 の増加誘導剤。

【請求項 2】 HGF を有効成分として含有する、アポトーシス進行抑制剤。

【請求項 3】 血管内皮細胞に対する、請求項 1 記載の bax の低下及び/又は bcl-2 の増加誘導剤、あるいは請求項 2 記載のアポトーシス進行抑制剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、肝実質細胞増殖因子 (HGF) を有効成分として含有する、bax の低下及び/又は bcl-2 の増加誘導剤、あるいはアポトーシスの進行抑制剤に関する。

【0002】

【従来の技術】アポトーシスとは、ネクローシスと形態学的に異なり、細胞膜と核内構造の変化を伴う急速な細胞縮小を特徴とする細胞死であり、遺伝子によりプログラムされた能動的過程である。アポトーシスの誘導に対する特定の細胞の異常な抵抗は、奇形、自己免疫疾患、あるいは腫瘍等の疾患を引き起こす。一方、アポトーシスの促進は、毒素を産生する細菌の感染や虚血-再灌流障害、あるいは梗塞といった急性疾患に関与していると言われている (Nature Medicine, Vol. 3, No. 6, p614-620 (1997))。アポトーシスの起こる過程は、initiation (開始)、effector (効果) 及びdegradation (分解) の 3 つの段階よりなる (Science, Vol. 267, p1456-1462 (1995)、FASEB J., Vol. 9, p1277-1287 (1995))。このうちinitiationの段階はアポトーシスを誘導する刺激の種類によって異なっているが、effector及びdegradationの段階は、多くのアポトーシスにおいて共通している。このeffectorの段階においてアポトーシスを調節する最も重要な因子の一つとして、bcl-2 及びそのファミリーが知られている。

【0003】bcl-2 遺伝子は、元々ヒト濾胞性 B 細胞リンパ腫付随の t(14;18)(q32;q21)転座点の解析から単離されたがん遺伝子である (Science, Vol. 226, p1097-1099 (1984))。その後、構造の類似性と bcl-2 タンパク質に結合する因子の同定を通し、現在までに多数の bcl-2 ファミリー遺伝子が単離されている。この bcl-2 ファミリー遺伝子は構造と機能の観点から、1) bcl-2 サブファミリー (bcl-2, bcl-x, bcl-w, mcl-1 などの遺伝子が属する)、2) bax サブファミリー (bax, bad, bak などの遺伝子が属する)、3) bik サブファミリー (bik, bid, bim などの遺伝子が属する) の 3 種類に分類されており、このうち bcl-2 サブファミリーに属する因子はアポトーシス抑制機能を有しているのに対し、bax 及び bik サブファミリーに属する因子はアポトーシス促進機能を有していることが知られている

(蛋白質 核酸 酵素 Vol. 42, No. 10, p1644-1648 (1997))。これらの因子のうち最も研究が進んでいるのは bcl-2 及び bax である。bcl-2 はシステインプロテアーゼ (caspase) の活性化を抑制するなどの種々のアポトーシス抑制作用を有することが知られており

(Nature Medicine, Vol. 3, No. 6, p614-620 (1997))、また bax に関しては、bax の過剰発現によりアポトーシスが促進されることなどが報告されている (Cell, Vol. 74, p609-619 (1993))。さらに、これら bcl-2 と bax との関係については、1) bcl-2 はホモダイマーを形成することによりアポトーシス抑制活性を発揮すること、一方、2) bax は bcl-2 とヘテロダイマーを形成することにより bcl-2 のホモダイマー形成を阻害して bcl-2 の機能を抑制すること、従って 3) bcl-2 と bax のバランスによってアポトーシスが抑制されたり促進されたりするということが、近年明らかにされている (Cell, Vol. 74, p609-619 (1993)、Nature Medicine, Vol. 3, No. 6, p614-620 (1997))。

【0004】以上のように、bcl-2 及び bax はアポトーシスの抑制及び促進に関わる重要な因子として知られている。さらに bcl-2 に関しては、主として前記アポトーシス抑制作用のみならず、一部のネクローシス (低酸素や呼吸阻害により誘導されるもの) を抑制することも示されており (Oncogene, Vol. 12, p2045-2050 (1996))、また細胞周期関連機能として、細胞周期 G0/G1 期の細胞を蓄積するとも言われている (J. Biol. Chem., Vol. 271, p12695-12698 (1996))。さらに bcl-2 は、形態形成 (分枝形成) を促進するとも言われている (J. Cell Biol., Vol. 129, p1363-1378 (1995))。

【0005】ところで肝実質細胞増殖因子 (HGF) は、成熟肝細胞に対する強力な増殖促進因子として発見され、その遺伝子クローニングがなされたタンパク質である (Biochem Biophys Res Commun, Vol. 122, p1450 (1984)、Proc. Natl. Acad. Sci, USA, Vol. 83, p6489, (1986)、FEBS Letter, Vol. 22, p311 (1987)、Nature, Vol. 342, p440 (1989)、Proc. Natl. Acad. Sci, USA, Vol. 87, p3200 (1990))。その後の研究により、HGF は生体内で腎、肺、胃、十二指腸、皮膚などの創傷治癒にも関係していることが明らかとなり、また HGF の受容体に関しては、c-Met 原腫瘍遺伝子が HGF 受容体をコードしていることが明らかにされている (Science, Vol. 251, p802-804 (1991)、Oncogene, Vol. 6, p501-504 (1991))。現在では HGF は、当該受容体を介することにより、多くの組織修復、器官再生に働く因子であると考えられている (実験医学 Vol. 10, p144-153 (1992)、動脈硬化 Vol. 23, p683-688 (1996))。このように、種々の生体内機能が解明されつつある HGF であるが、該 HGF と前記 bcl-2 あるいは bax との関係については、何ら明らかにされていない。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、HGFを有効成分として含有するbaxの低下及び／又はbc1-2の増加誘導剤を提供することを目的とする。本発明のbaxの低下及び／又はbc1-2の増加誘導剤は、baxの増加及び／又はbc1-2の低下が関与する種々の疾患に対して有効な治療薬となる。さらに本発明は、HGFの有するbaxの低下及び／又はbc1-2の増加誘導作用に基づき、アポトーシスの進行抑制剤を提供することを目的とする。本発明のアポトーシス進行抑制剤は、例えば高血糖あるいは虚血障害を受けた血管内皮細胞のアポトーシスの進行を抑制することができる。

【0007】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、HGFと前記bc1-2及びbaxの関係を明らかにすべく、鋭意検討を行った。まず、血管内皮細胞に対して高血糖障害を与えたところ、対照群と比較してbaxの強発現及びbc1-2の低下が認められた。この高血糖群に対してHGFを添加したところ、HGFはbaxを減少し、bc1-2を増加させ、bax/bc1-2比を減少させるという効果を有することを、本発明者らは初めて見出した。さらに、前記高血糖群では対照群に比しアポトーシス細胞の増加が認められ、アポトーシスの一つの指標であるDNA fragmentationにおいても有意な増加が認められたのに対し、この高血糖群にHGFを添加することにより、前記アポトーシスが有意に抑制されることをも、本発明者らは明らかにした。

【0008】従ってHGFは、障害を受けた細胞の如きbaxの増加及び／又はbc1-2の低下の生じた細胞に対してbaxの低下及び／又はbc1-2の増加をもたらすことにより、アポトーシス抑制作用を発揮していると考えられる。先に記載したようにbc1-2及びbaxは、アポトーシスの3つの段階（initiation、effector及びdegradation）のうち、effectorの段階においてアポトーシスを調節している重要な因子である。従ってHGFは、bc1-2及びbaxへの作用を通して“effector”というアポトーシスの中間段階を抑制していることから、アポトーシスの進行を抑制する進行抑制剤として使用することができる。本発明は以上のような知見に基づいてなされたものであり、従って本発明は、HGFを有効成分として含有するbaxの低下及び／又はbc1-2の増加誘導剤、あるいはHGFを有効成分とするアポトーシス進行抑制剤に関するものである。

【0009】

【発明の実施の形態】本発明で使用されるHGFは公知物質であり、医薬として使用できる程度に精製されたものであれば、種々の方法で調製されたものを用いることができ、また既に市販されている製品（例えば、東洋紡 Code No. HGF-101等）を使用してもよい。HGFの製造法としては、例えば、HGFを産生する初代培養細胞や株化細胞を培養し、培養上清等から分離、精製して該H

G Fを得ることができる。あるいは遺伝子工学的手法によりHGFをコードする遺伝子を適切なベクターに組み込み、これを適当な宿主に挿入して形質転換し、この形質転換体の培養上清から目的とする組換えHGFを得ることができる（例えば Nature, Vol. 342, p440 (1989)、特開平5-111383号公報、Biochem. Biophys. Res. Commun. Vol. 163, p967 (1989)など参照）。上記の宿主細胞は特に限定されず、従来から遺伝子工学的手法で用いられている各種の宿主細胞、例えば大腸菌、酵母又は動物細胞などを用いることができる。このようにして得られたHGFは、天然型HGFと実質的に同じ作用を有する限り、そのアミノ酸配列中の1若しくは複数のアミノ酸が置換、欠失及び／又は付加されていてもよく、また同様に糖鎖が置換、欠失及び／又は付加されていてもよい。

【0010】本発明のbaxの低下及び／又はbc1-2の増加誘導剤は、例えば障害を受けた細胞あるいは組織のようにbaxの増加及び／又はbc1-2の低下が生じている細胞あるいは組織に対して、baxの低下及び／又はbc1-2の増加を誘導することができる。従って本発明のbaxの低下及び／又はbc1-2の増加誘導剤は、baxの増加及び／又はbc1-2の低下が関与する種々の疾患に対して有効な治療薬となる。先に記載したように、bc1-2は主としてアポトーシス抑制作用を、またbaxはアポトーシス促進作用を有する因子である。さらにbc1-2に関しては、アポトーシス抑制作用のみならず、一部のネクローシス（低酸素や呼吸障害により誘導されるもの）を抑制することも示されており（Oncogene, Vol. 12, p2045-2050 (1996)）、また細胞周期関連機能として、細胞周期G0/G1期の細胞を蓄積すると言われている（J. Biol. Chem., Vol. 271, p12695-12698 (1996)）。また形態形成（分枝形成）を促進するとも言われている（J. Cell Biol., Vol. 129, p1363-1378 (1995)）。またbc1-2は、例えばNature Medicine, Vol. 3, No. 6, p614-620 (1997)の表2に挙げられているような生物学的な作用を有することにより、多様なアポトーシス抑制作用や細胞の保護、恒常性の維持に関与する作用を有することが知られている。従って本発明のHGFを有効成分とするbaxの低下及び／又はbc1-2の増加誘導剤は、bc1-2の産生促進やbaxの産生抑制を通して、アポトーシスの進行抑制剤、一部のネクローシスの進行抑制剤、あるいは形態形成の促進剤などに使用することができる。

【0011】本発明において前記アポトーシス進行抑制剤とは、前記baxの低下及び／又はbc1-2の増加誘導作用に基づくものであり、bc1-2及びbaxの存在比を調節することによりアポトーシスのeffector段階に作用して、アポトーシスの進行を抑制する働きを有するものである。

【0012】本発明のbaxの低下及び／又はbc1-

10

20

30

40

50

2の増加誘導剤、あるいはアポトーシス進行抑制剤は、具体的には高血糖による血管内皮障害、さらには虚血による血管内皮障害に対して有効であるため、糖尿病性内皮障害などの治療薬として使用することができる。また本発明のb a xの低下及び／又はb c l-2の増加誘導剤、あるいはアポトーシス進行抑制剤は、例えば以下のような疾患に対しても使用することができる。すなわち、過度のアポトーシスが関与している疾患としてPro c. Natl. Acad. Sci. USA, Vol. 94, p12736-12737 (1997)の表1には、腫瘍（黒色腫、肝癌など）、肝不全のような肝疾患、骨髄異形成症候群、潰瘍性大腸炎、橋本病などの疾患が挙げられており、本発明のアポトーシス進行抑制剤を、これらの疾患に対して使用することができる。また、腎移植の際に拒絶反応を示した症例の生検サンプルにおいて、b c l-2の発現が低下し、b a xの発現が増強していたという報告がなされており（別冊・医学のあゆみ、腎とアポトーシス、p97-100(1997)）、本発明のb a xの低下及び／又はb c l-2の増加誘導剤、あるいはアポトーシス進行抑制剤を、この移植腎拒否のような臓器移植拒否反応に対しても、使用することが可能である。さらにb c l-2に関しては、b c l-2欠損マウスにおいて嚢胞腎様の腎臓の形成異常や神経細胞の減少などの症状が見られており（蛋白質核酸酵素、Vol. 42, p1644-1648(1997)、本発明のb a xの低下及び／又はb c l-2の増加誘導剤、あるいはアポトーシス進行抑制剤を、多発性嚢胞腎、あるいはアルツハイマー病などを含む脳・神経変性疾患、虚血性脳障害などに対して使用することも可能である。

【0013】本発明のb a xの低下及び／又はb c l-2の増加誘導剤、あるいはアポトーシス進行抑制剤は、種々の製剤形態（例えば液剤、固形剤、カプセル剤等）をとりうるが、一般的には有効成分であるHGFのみ又はそれと慣用の担体と共に注射剤、吸入剤、坐剤又は経口剤とされる。当該注射剤は常法により調製することができ、例えばHGFを適切な溶剤（例えば滅菌水、緩衝液、生理食塩水等）に溶解した後、フィルター等で濾過して滅菌し、次いで無菌的な容器に充填することにより調製することができる。注射剤中のHGF含量としては、通常0.0002~0.2 (W/V%)程度、好ましくは0.001~0.1 (W/V%)程度に調整される。

【0014】製剤化に際して、好ましくは安定化剤が添加される。安定化剤としては、例えばアルブミン、グロブリン、ゼラチン、グリシン、マンニトール、グルコース、デキストラン、ソルビトール、エチレングリコールなどが挙げられる。さらに本発明の製剤は、製剤化に必要な添加物、例えば賦形剤、溶解補助剤、酸化防止剤、当量化剤等を含んでいてもよい。液状製剤とした場合は凍結保存、又は凍結乾燥等により水分を除去して保存するのが好ましい。凍結乾燥製剤は、用時に注射用蒸留水などを加え、再溶解して使用される。

【0015】本発明のb a xの低下及び／又はb c l-2の増加誘導剤、あるいはアポトーシス進行抑制剤は、その製剤形態に応じた適当な投与経路により投与される。例えば、注射剤の形態にして静脈、動脈、皮下、筋肉内などに投与することができる。その投与量は、患者の症状、年齢、体重などにより適宜調整されるが、通常HGFとして0.05mg~500mg、好ましくは1mg~100mgであり、これを1日1回ないし数回に分けて投与するのが適当である。

【0016】

【実施例】以下、実施例により本発明を具体的に説明するが、本発明はこれらの実施例によりなんら限定されるものではない。

【0017】実験材料及び方法

細胞培養

ヒト血管内皮細胞をクラボー（株）より購入して用いた。細胞は、10%ウシ血清、ペニシリン（100U/ml）、ストレプトマイシン（100mg/ml）を含むDMEM培地を用いて、37℃にて水蒸気に満たされた95%空気-5%二酸化炭素の条件下にて培養し、2日に1度培地の交換を行った。

高血糖条件での培養

上記血管内皮細胞を約10⁶cells/wellの密度で96穴プレートまたは12穴プレートに播種し、10%ウシ血清を加えたEGM培地にて増殖させた。6日間培養後、5mM（対照）あるいは25mM（高血糖）のD-グルコースを含むEGM培地に交換し、100ng/ml HGF存在下あるいは非存在下で3日間培養した。これら4種類の細胞を用いて、以下の核染色、DNA断片化の検出及びウェスタンブロットを実施した。

【0018】核染色によるアポトーシス細胞の検出

15cmプレートをを用いて、100ng/ml HGF存在下あるいは非存在下で3日間培養した血管内皮細胞に対し、ヘキスト染色によりクロマチンの凝縮などを観察した。

DNA断片化の検出

12穴プレートをを用いて、100ng/ml HGF存在下あるいは非存在下で3日間培養した血管内皮細胞より、DNAのフラグメンテーションをELISA法にて測定した（ベーリンガー社）。

【0019】ウェスタンブロット法によるb c l-2およびb a x蛋白の検出

ウェスタンブロット法による蛋白の検出は、既報の方法（村松編、増補版ラボマニュアル遺伝子工学、丸善、1990年）に従って行った。15cmプレートをを用いて、100ng/ml HGF存在下あるいは非存在下で3日間培養した血管内皮細胞より常法により蛋白質を調製し、SDS-PAGE後にメンブレン（アマシャム社）に転写し、抗b c l-2抗体または抗b a x抗体（サンタクルーズ社）を用いたウェスタンブロット法に

10

20

30

40

50

よる染色を行った。その後 b c l-2 蛋白及び b a x 蛋白の発現量を、島津デンシトメトリーを用いた画像解析により定量化した。

材料

HGF は組換え型ヒト HGF を用いた。

【0020】統計解析

すべての値は、平均値±標準誤差にて現した。すべての実験は最低3回繰り返した。多重比較における有意差検定には、ダンカンの検定を用いた。危険率5%以下を統計上有意と考えた。

【0021】試験例1

高血糖培養による血管内皮細胞のアポトーシスに対する HGF の効果

高血糖条件下(25mM D-グルコース)で血管内細胞を培養することにより、対照(5mM D-グルコース)に比し、核染色によるアポトーシス細胞の増加を認めた。さらに、DNA断片化においても有意な増加を認めた(図1)。高血糖条件下(25mM D-グルコース)に HGF 添加することにより、高血糖によるDNA断片化の増加が有意に抑制された(図1)。以上より、高血糖培養による血管内皮細胞のアポトーシスを HGF が有意に抑制することが明らかとなった。

【0022】試験例2

血管内皮細胞における b c l-2 および b a x 蛋白の発現に対する HGF の効果

ウェスタンブロット法による b c l-2 および b a x 蛋白の発現量の検出結果を図2及び図3にそれぞれ示した。また b a x / b c l-2 比を図4に示した。高血糖培養により、対照と比較してアポトーシス抑制因子 b c l-2 蛋白の発現量の低下が認められたが、HGF の添加により該 b c l-2 蛋白の発現量が有意に増加した

(図2)。また高血糖培養により、対照に比較して b a x 蛋白の発現量は顕著に増加したが、HGF の添加により該 b a x 蛋白の発現は有意に抑制された(図3)。また高血糖培養により、血管内皮細胞における b a x / b c l-2 比は有意に増加し、HGF はその増加を有意に抑制した(図4)。以上より、高血糖における血管内皮細胞のアポトーシスには、b a x の増加及び b c l-2 の低下による b a x / b c l-2 比の増加が関与するこ*

*とが分かった。また、HGF は b a x の増加を抑制し、かつ b c l-2 を増加させることにより、b a x / b c l-2 比を低下させ、アポトーシス進行抑制作用を示すことが明らかになった。

【0023】製剤例1

生理食塩水100ml中にHGF 1mg、マンニトール1g及びポリソルベート80 10mgを含む溶液を無菌的に調製し、1mlずつバイアルに分注した後、凍結乾燥して密封することにより凍結乾燥製剤を得た。

10 【0024】製剤例2

0.02Mリン酸緩衝液(0.15M NaCl及び0.01%ポリソルベート80含有、pH7.4)100ml中にHGF 1mg及びヒト血清アルブミン100mgを含む水溶液を無菌的に調製し、1mlずつバイアルに分注した後、凍結乾燥して密封することにより凍結乾燥製剤を得た。

【0025】

【発明の効果】本発明により、HGF を有効成分として含有する、b a x の低下及び/又は b c l-2 の増加誘導剤、あるいはその一態様としてアポトーシス進行抑制剤が提供される。本発明の b a x の低下及び/又は b c l-2 の増加誘導剤は、b a x の増加及び/又は b c l-2 の低下が関与する種々の疾患に対して有効に作用する。具体的には、例えば障害を受けた血管内皮細胞のアポトーシスの進行を抑制することができる。

【図面の簡単な説明】

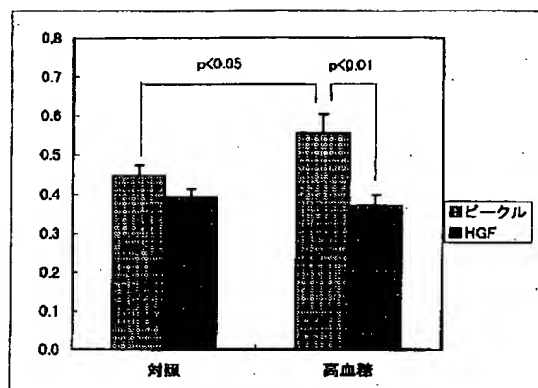
【図1】図1は、高血糖条件下での血管内皮細胞におけるDNA断片化に対するHGFの作用を示すグラフである。図中、縦軸は、吸光度を示す。

30 【図2】図2は、高血糖条件下での血管内皮細胞における b c l-2 蛋白発現量に対するHGFの作用を示したグラフである。図中、縦軸は、orbitaly unitsを示す。

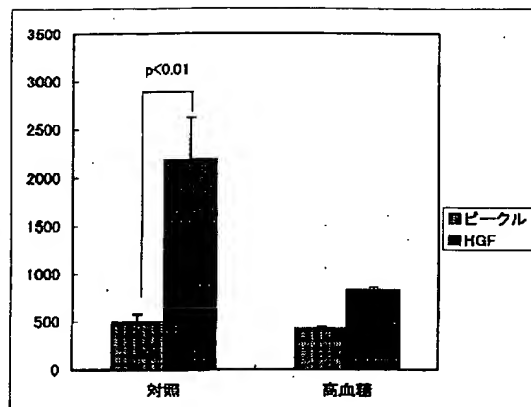
【図3】図3は、高血糖条件下での血管内皮細胞における b a x 蛋白発現量に対するHGFの作用を示したグラフである。図中、縦軸は、orbitaly unitsを示す。

【図4】図4は、高血糖条件下での血管内皮細胞における b a x / b c l-2 比を示したグラフである。

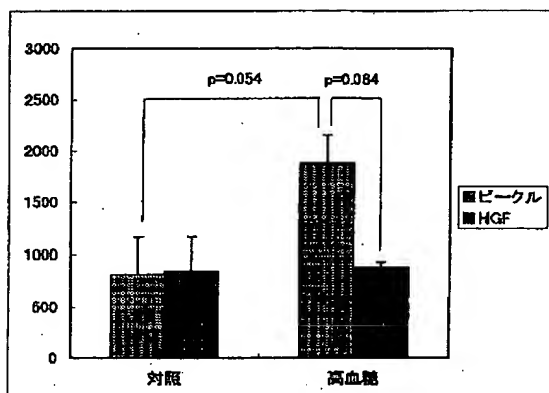
【図 1】



【図 2】



【図 3】



【図 4】

